最終報告書

３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドの
ラットを用いた経口投与による急性毒性試験

(試験番号：B010048)

2002 年 8 月 6 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目 次

要約 5
緒言 6
材料および方法 7
1. 被験物質 7
2. 試験動物 7
3. 動物飼育 8
4. 投 与 8
5. 群構成 9
6. 観察・測定項目 9
6.1 一般状態 9
6.2 体 重 9
6.3 病理学的検査 9
7. 半数致死量（LD_{50}）の算出 10
8. 統計学的解析 10
結果 11
1. 一般状態 11
2. 体重 11
3. 病理学的検査 11
考察 12

図および群別表 17

要約

３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドをCrj:CD(SD)IGS ラットに１回経口投与し，その急性毒性を検討した．投与用量は雌雄とも2000 mg/kg，投与液量は10 mL/kg とし，投与後14 日間の観察を行った．

観察期間中，一般状態に異常はみられず，体重も観察期間を通して増加した．また，剖検でも異常所見は認められなかった．

３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドを雌雄のラットに１回経口投与した結果，半数致死量（LD_{50}値）は雌雄ともに2000 mg/kg 以上と推定した．

緒言

既存化学物質の安全性点検調査事業の一環として，ラットを用いて３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドの急性毒性試験を行い，生体への毒性学的影響について検討したので報告する．

材料および方法

1. 被験物質

から提供された３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリド（略称：CVL，別名：６－（ジメチルアミノ）－３，３－ビス［４－（ジメチルアミノ）フェニル]－１（３Ｈ）－イソベンゾフラノン，CAS No.1552-42-7，ロット番号：　　純度：99.5 wt%）を使用した．被験物質は下記の化学名，化学式および不純物を有し，融点は 179～184℃，揮発性，臭気はなく，通常の取扱いでは安定，水に難溶解性で安定，DMSO，アセトンに溶解，酸と接触して発色するが，反応による危険性はない淡黄褐色粉末である．被験物質は室温・密封で保存した．

被験物質の安定性は，被験物質提供者より安定性を保証する資料を入手し，確認した．

化学式：　$C_{26}H_{29}N_3O_2$

不純物：　不明　0.8%（メチル基の１つが水素と置換したと推定される）

2. 試験動物

日本チャールス・リバー㈱（厚木生産所）から 2001 年 7 月 4 日に Crj:CD(SD)IGS ラット（SPF）雌雄各 13 匹を入手した．動物入荷後，5 日間毎日 1 回観察した．この期間を検疫・馴化期間とした．検疫終了後，投与までの 1 日間を馴化期間とし，いずれの動物も健康状態が良好であることを確認した．投与前日に，体重層別化無作為抽出法によって各群の平均体重がほぼ均一となるように群分けし，雌雄各 10 匹を試験に使用した．投与日の週齢は雌雄とも 5 週齢，体重範囲は雄が 124～129 g，雌が 113～121 g であった．なお，個別の体重が平均体重±20%以内であることを確認した．

動物は，尾に油性ペンで標識して個体識別した．ケージには試験番号，被験物質名，試験種，群名（用量），性別，動物種，系統，動物番号および投与期間を記載したラベルを付けた．

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて，温度 22±2°C（許容範囲 19.0～25.0°C），相対湿度 55±15%（許容範囲 35.0～75.0%），換気約 12 回／時（オールフレッシュエアー供給），照明 12 時間／日（7:00-19:00）に自動調節された飼育室を使用した．RM 飼育室（4125）で検疫・馴化し，検疫終了後は，RM 飼育室（2124）で飼育した．飼育期間中の温度および相対湿度の実測値はそれぞれ 21.7～25.8°C，49.0～74.8%であった．

動物は，滅菌済の実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー㈱）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm，トキワ科学器械㈱）内で飼育した．群分け前は 1 ケージあたり 4 あるいは 5 匹（同性），群分け後は，5 匹（同性）ずつ収容し，スチール製架台（トキワ科学器械㈱）上に配置して飼育した．給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器（トキワ科学器械㈱）を，給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶（700 mL，トキワ科学器械㈱）を使用した．ケージ（含床敷），給餌器および給水瓶は群分け時および第 8 日（投与日を第 1 日とする）にオートクレーブしたものと交換した．

動物には，実験動物用固型飼料（MF，オリエンタル酵母工業㈱）と，5 μm のフィルター濾過後，紫外線照射した水道水を自由に摂取させた．飼料と飲用水は群分け時および第 8 日に交換した．

飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所で定めた基準に適合していることを確認した．また，床敷中の残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所で定めた基準に適合していることを定期的に確認している．飲用水は，水道法に準拠した水質検査を定期的に実施し，分析値が基準に適合していることを確認している．

4. 投　与

投与経路は OECD ガイドラインに従い経口，投与回数は 1 回とした．投与前日の夕方から約 18 時間絶食させたラットに，ラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブルシリンジを用いて強制経口投与した．なお，投与後約 3 時間に給餌した．

用量設定試験として 2000 mg/kg の用量で雌雄各 3 匹の SD 系ラットに単回経口投与し，投与後 7 日間観察した．その結果，死亡例は認められず，一般状態にも異常は認

められなかった．体重は観察期間中増加し続けた．さらに観察期間終了時の剖検結果において，異常は認められなかった．この結果から，本試験は限界試験とし，用量は雌雄ともに 2000 mg/kg の 1 用量を設定した．この他に媒体のみを投与する対照群を設けた．投与液量は 10 mL/kg とし，投与直前の体重に基づいて算出した．

投与液の調製は投与日の 8 日前に行った．被験物質を秤量し，メノウ乳鉢を用いて 0.1%Tween80 添加 0.5%CMC-Na 水溶液（Tween80 関東化学㈱，ロット番号 210D2073，CMC-Na 関東化学㈱，ロット番号 201G1785）に懸濁させ，200 mg/mL の被験物質懸濁液を調製し，投与に供するまで冷蔵・遮光で保存した．本試験に先立ち，投与液中の被験物質の均一性および冷蔵保存条件下での 8 日間の安定性を 0.4 および 200 mg/mL の濃度で HPLC 法により確認した．また，投与に供する被験物質懸濁液を投与前までに HPLC 法により分析し，投与液濃度が 202 mg/mL と，設定値±10%の範囲内にあることを確認した（添付資料）．

5. 群構成

群　名	雄		雌	
	動物数	動物番号	動物数	動物番号
対　照	5	10101～10105	5	50101～50105
2000 mg/kg	5	10201～10205	5	50201～50205

6. 観察・測定項目

下記の項目を検査した．なお，日の表記は投与日を第 1 日とした．

6.1 一般状態

投与日には投与直前，投与後 1，3 および 6 時間の 4 回，以後は 1 日 1 回 14 日間にわたって全例の生死および外観・行動等の異常について観察した．

6.2 体　重

投与直前，第 4，8 および 15 日に全例の体重を電子上皿天秤（EB-3200S，㈱島津製作所）を用いて測定した．

6.3 病理学的検査

第 15 日に全例をチオペンタールナトリウム（ラボナール，田辺製薬㈱）の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し，安楽死させた後剖検した．剖検で異常が

認められなかったため，器官・組織の採取および保存はしなかった．

7. 半数致死量（LD_{50}）の算出

限界試験のため実施しなかった．

8. 統計学的解析

t-検定法で統計学的有意性を検討した．すなわち F 検定による等分散の検定を行い，分散が等しい場合は Student の t-検定，分散が等しくない場合は Welch の t-検定を行った．最低有意水準は 5%とした．

統計学的解析の対象項目は体重のみとした．

結果

1. 一般状態（Table 1, Appendix 1）

いずれの動物にも死亡をはじめ異常所見は認められなかった.

2. 体重（Figure 1, Table 2）

雌雄ともに対照群と同様の推移を示した.

3. 病理学的検査（Table 3, Appendix 2）

いずれの動物にも異常所見は認められなかった.

考察

３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドを 2000 mg/kg の用量で雌雄ラットに 1 回経口投与した結果，死亡例は認められず，一般状態，体重，剖検において毒性影響は認められなかった．

このことから３，３－ビス（ｐ－ジメチルアミノフェニル）－６－ジメチルアミノフタリドの半数致死量（LD_{50}値）は，雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定した．

図および群別表

Figure 1 体重 18

Table 1 一般状態 20

Table 2 体重 21

Table 3 剖検所見 23

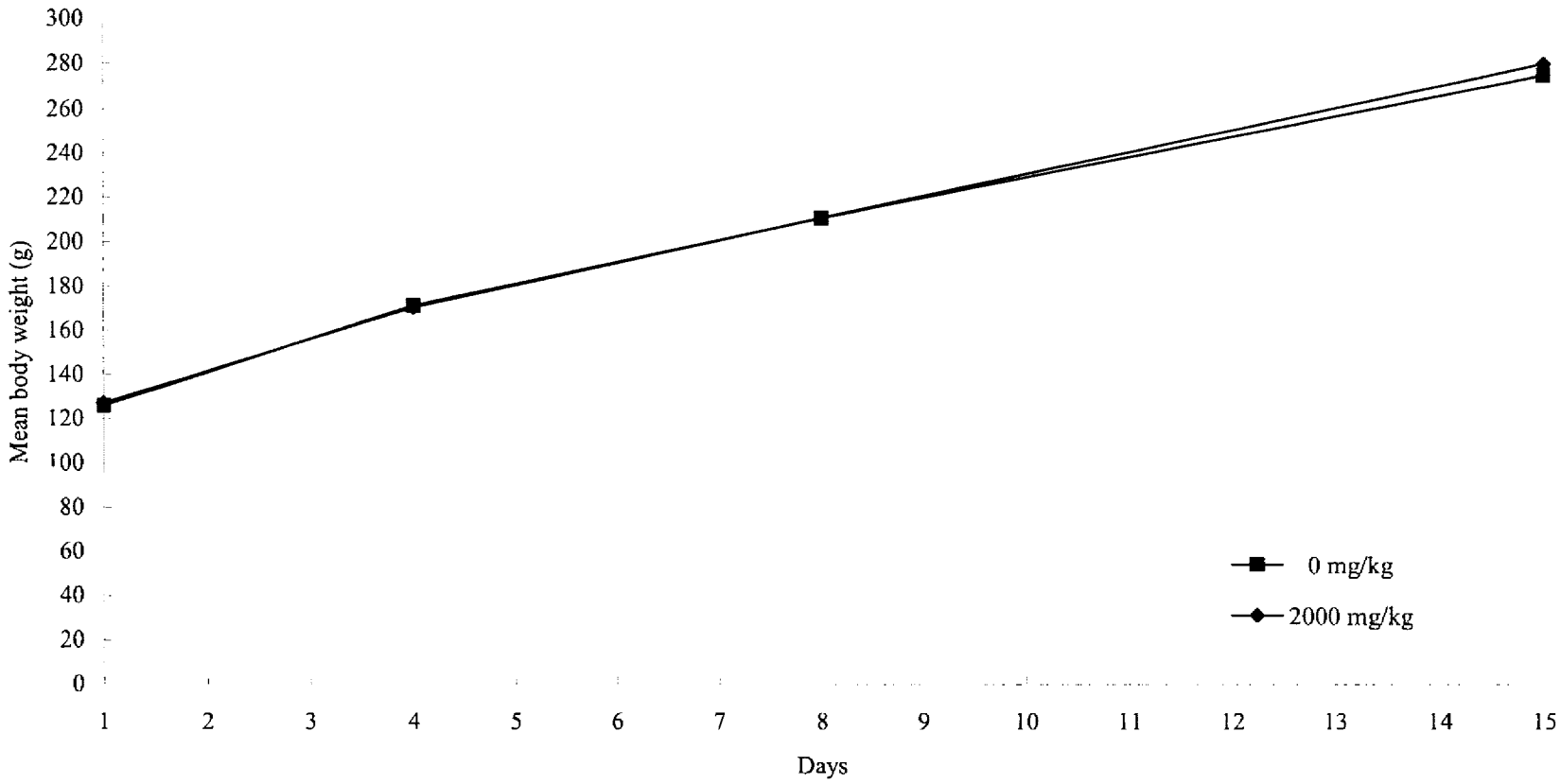

Figure 1-1 Mean body weight changes of rats after administration of CVL (Male)
The day of administration was designated as Day 1.

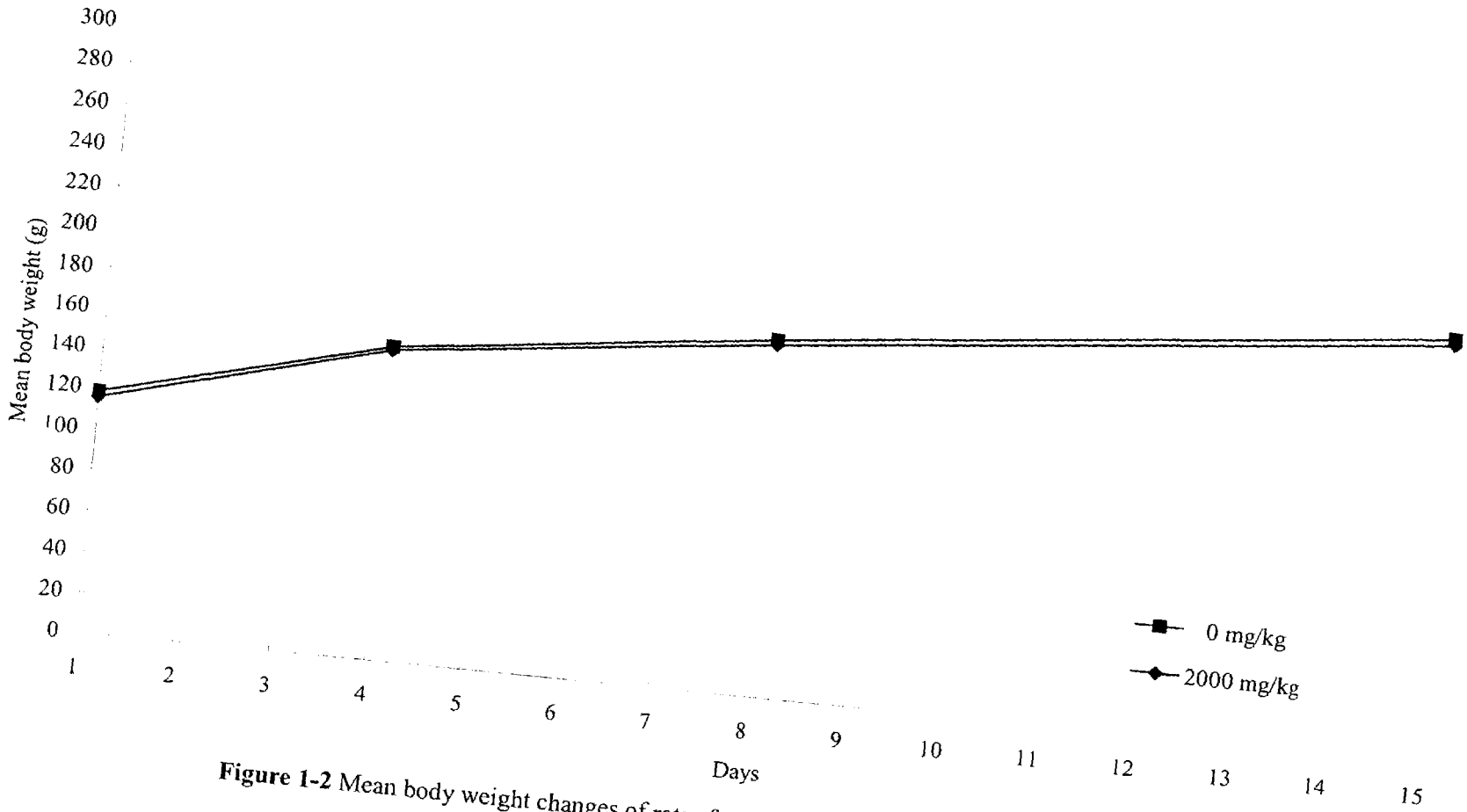

Figure 1-2 Mean body weight changes of rats after administration of CVL (Female)
The day of administration was designated as Day 1.

Table 1 Clinical signs of rats administered CVL

Sex	Test substance Dose (mg/kg)		Day 1 0h	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Male	CVL	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	0	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Male	CVL	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2000	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	CVL	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	0	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	CVL	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2000	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

The day of administration was designated as Day 1.

0h, just before administration ; 1h, 1 hr after administration ; 3h, 3 hr after administration ; 6h, 6 hr after administration.

Table 2-1 Body weights of rats administered CVL (Male)

Unit: g

Test substance Dose (mg/kg)	Animal Number	Day 1	Day 4	Day 8	Day 15
CVL	10101	125	166	205	274
0	10102	129	175	216	285
	10103	125	169	212	285
	10104	127	170	212	288
	10105	129	171	207	266
	Mean	127.0	170.2	210.4	279.6
	S.D.	2.0	3.3	4.4	9.3
	N	5	5	5	5
CVL	10201	124	167	206	258
2000	10202	124	169	204	267
	10203	124	171	214	283
	10204	128	173	209	275
	10205	129	175	218	290
	Mean	125.8	171.0	210.2	274.6
	S.D.	2.5	3.2	5.8	12.7
	N	5	5	5	5

The day of administration was designated as Day 1. There were no significant differences among the groups ($p>0.05$ by t - tests).

Table 2-2 Body weights of rats administered CVL (Female)

Unit: g

Test substance Dose (mg/kg)	Animal Number	Day 1	Day 4	Day 8	Day 15
CVL	50101	114	148	161	196
0	50102	116	156	180	213
	50103	116	150	174	209
	50104	120	157	176	204
	50105	113	149	174	200
	Mean	115.8	152.0	173.0	204.4
	S.D.	2.7	4.2	7.1	6.8
	n	5	5	5	5
CVL	50201	113	150	178	209
2000	50202	120	156	174	205
	50203	120	155	179	206
	50204	118	149	169	203
	50205	121	158	177	214
	Mean	118.4	153.6	175.4	207.4
	S.D.	3.2	3.9	4.0	4.3
	n	5	5	5	5

The day of administration was designated as Day 1. There were no significant differences among the groups ($p>0.05$ by t - tests).

Table 3 Necropsy findings of rats administered CVL

	Sex:	Male		Female	
	Test substance:	CVL	CVL	CVL	CVL
	Dose (mg/kg):	0	2000	0	2000
Organ	Number of animals:	5	5	5	5
Findings	Number of animals examined:	5	5	5	5
No abnormality		5	5	5	5

There were no abnormalities in any animals.